SÉRIE U
N° D'ORDRE :
69

THÈSES

PRÉSENTÉES

À LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG
(MENTION SCIENCES)

PAR

F. SZÜCS

1re THÈSE. — LA RELATION ENTRE LES COMPOSÉS PURIQUES ET LES PROTIDES CHEZ LES MICROORGANISMES.

2e THÈSE. — PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 6 JUIN 1930 devant la Commission d'examen

MM. TERROINE . . . . . *Président*
L. CHERMEZON . .)
ROMANN . . . . .) *Examinateurs*

STRASBOURG
Librairie Universitaire d'Alsace
1930

SÉRIE U
N° D'ORDRE :
69

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG
(MENTION SCIENCES)

PAR

F. SZŰCS

1re **THÈSE.** — LA RELATION ENTRE LES COMPOSÉS PURIQUES ET LES PROTIDES CHEZ LES MICROORGANISMES.

2e **THÈSE.** — PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 6 JUIN 1930 **devant la Commission d'examen**

MM. TERROINE . . . . . *Président*
L. CHERMEZON .) *Examinateurs*
ROMANN . . . . .)

STRASBOURG
Librairie Universitaire d'Alsace
1930

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

Doyen : . . . . . E. ROTHE. Professeur de Physique du Globe

Doyens honoraires : . . . . . E. BATAILLON. P. MULLER.

Professeurs honoraires : . . . . H. VILLAT, GIGNOUX et FRECHET.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Professeurs :

G. VALIRON	Analyse supérieure
P. WEISS	Physique générale
H. OLLIVIER	Physique générale
L. HACKSPILL	Chimie minérale
H. GAULT	Chimie organique
E. TOPSENT	Zoologie et anatomie comparée
C. HOUARD	Botanique
E. TERROINE	Physiologie générale
J. de LAPARRENT	Pétrographie
E. CHATTON	Biologie générale
R. THIRY	Mécanique
G. CERF	Calcul différentiel et intégral
G. DUBOIS	Géologie et Patéontologie
G. RIBAUD	Physique expérimentale
P. FLAMANT	Mathématiques générales
E. CORNEC	Chimie générale
N.....	Physique biologique
P. de BEAUCHAMP	Biologie générale
L. BOUNOURE	Zoologie
G. FOEX	Physique générale
H. CHERMEZON	Botanique
G. REMPP	Physique du Globe
R. ROMANN	Chimie physique et électrochimie
N	Astronomie

Chargés de cours et Maîtres de conférences

G. FRIEDEL	Minéralogie
J. LAGARDE	Botanique
Ch. STAEHLING	Chimie appliquée
J. LACOSTE	Physique du Globe
G. HUGEL	Chimie du Pétrole
H. WEISS	Physico-Chimie du Pétrole
H. MILLOUX	Mathématiques
A. ROUSSEL	Mathématiques générales
P. SOLEILLET	Physique mathématique
FAILLEBIN	Chimie appliquée
G. MIGNONAC	Chimie organique

Secrétaire . . . G. CUVIER.

A MON MAITRE,
MONSIEUR LE PROFESSEUR TERROINE

Directeur de l'Institut de Physiologie générale
de la Faculté des Sciences

avec l'assurance de
toute ma gratitude

A MON PERE

Introduction.

Depuis R. Hertwig les cytologistes ont tenté de relier les différents états nutritifs des cellules et leurs conditions d'existence avec des variations du rapport nucléoplasmatique.

Les physiologistes, d'autre part, ont tenté de transporter la notion du rapport nucléoplasmatique dans le domaine biochimique par évaluation des protides, caractéristiques du protoplasme et des composés puriques, caractéristiques du noyau.

Pour de multiples raisons le rapport cytologique ne peut exprimer la même chose que le rapport biochimique. D'où l'intérêt de comparer les variations respectives de leurs valeurs sous l'influence de conditions dont on peut penser qu'elles sont susceptibles de modifier la composition des cellules.

Dans ce but, nous apportons dans le présent travail les résultats d'une étude de la relation des composés puriques avec les protides:

1.) chez une série de microorganismes de structure très différente afin de rechercher si le rapport de l'azote aminopurique à l'azote protidique constituait une constante caractéristique des espèces;

2.) lors du développement d'un même organisme à des températures aussi éloignées que possible;

3.) lors de l'inanition totale ou de l'inanition azotée simple en vue de préciser l'ordre de dégradation des constituants cellulaires.

Ce travail a été entièrement fait à l'institut de Physiologie générale, sous la direction de Monsieur le Professeur E. F. TERROINE, auquel je tiens à exprimer toute ma reconnaissance pour toute la bienveillance avec laquelle il a toujours suivi notre travail.

Je tiens également à remercier Monsieur le Professeur CHATTON, pour toutes les indications qu'il nous a données, et Monsieur le Professeur ROMANN, d'avoir bien voulu faire partie du jury.

Je remercie enfin, tous les travailleurs du laboratoire, pour l'aide qu'ils nous ont apportés au cours de l'exécution de norte travail.

CHAPITRE I.

Le rapport des corps puriques aux protides chez les microorganismes.

I) Objet du travail

Se fondant tant sur les observations antérieures de BOVERI (3) et de GERASSIMOW (6), que sur ses recherches personnelles et celles de ses élèves, R. HERTWIG (7) a affirmé l'existence d'une relation nécessaire entre les dimensions du noyau et celles de la cellule, relation qu'il désigne sous le nom de **rapport nucléoplasmatique.**

Avec lui, et dans la suite, de nombreux cytologistes ont admis que la valeur de ce rapport est modifiée dans un sens précis par diverses influences extérieures et que les variations, de cette valeur déterminent d'un part l'activité de la cellule, et d'autre part concordent avec l'apparition de la division cellulaire.

Sans vouloir faire un historique complet (I), inutile pour préciser l'objet de notre travail, nous nous contenterons de rappeler:

Les multiples études de HERTWIG (8) lui-même, tendant à établir l'existence d'une interdépendance du protoplasme et du noyau lors des variations du volume cellulaire sous des influences variées;

I) On trouvera un exposé d'ensemble de cette question, en ce qui regarde les protozoaires, dans l'ouvrage de K. BELAR.

Les travaux de GERASSIMOW (6) montrent que, par l'action des anesthésiques ou de la température sur des **Spirogyra** en voie de division on peut provoquer l'apparition de cellules très grandes à noyau également très grand.

Les nombreuses recherches, sur lesquelles nous reviendrons en détail ultérieurement, et qui permettent d'établir, le plus souvent sur des protozoaires, parfois aussi sur des cellules d'êtres supérieurs, animaux ou végétaux, que le rapport nucléoplasmatique, fixe pour des conditions physiologiques normales et constantes, varie considérablement soit sous l'influence successive de l'inanition et de l'alimentation, soit sous celle des variations de la température extérieure.

Enfin l'affirmation de ROBERTSON (17) résumant d'ailleurs l'opinion de nombreux biologistes et d'après laquelle l'activité oxydative d'une cellule ou d'un tissu serait proportionnelle à leur rapport nucléoplasmatique.

Si le rapport nucléoplasmatique a bien l'importance que lui accordent les cytologistes il domine donc entièrement l'activité cellulaire car, réagissant à tout ce qui modifie le degré de cette acti vité cellulaire car, réagissant à tout ce qui modifie le degré de cette activité, il commande à son intensité puisqu'il règle à la fois la grandeur des oxydations et le moment de la division, cette dernière étant la conséquence d'une valeur déterminée du rapport. Toute la vie cellulaire, dit K. BELAR, est déterminée par le rapport nucléoplasmatique.

On comprend alors que les physiologistes, dont l'une des préoccupations dominantes est de préciser les lois qui régissent la grandeur des combustions chez tous les êtres, veuillent tenter une détermination plus rigoureuse du rapport nucléoplasmatique et procéder à une analyse plus intime de sa signification.

SCHAEFFER et Le BRETON (19), qui ont attiré les premiers leur attention sur l'intérêt d'une telle étude et l'ont entamée dans le cas de la croissance des mammifères et des oiseaux ont tout d'abord insisté, et très justement, sur le fait que les mesures des cytologis-

tes, si bien faites soient elles, ne donnent que des rapports de volumes et non de masses.

K. BELAR a d'autre part énuméré les difficultés d'appréciation de la grandeur du rapport nucléoplasmatique ainsi que ses insuffisances. La détermination ne peut évidemment porter que sur des êtres vivants; comment faire pour défalquer du protoplasme les vacuoles remplies de matériaux nutritifs ainsi que tous les corps étrangers. D'autre part il existe dans le noyau certains éléments dont il ne faut pas tenir compte et l'on ne sait exactement comment considérer le nucléole dont le volume est parfois considérable.

Enfin, et c'est là une considération qui prendra, croyons nous, beaucoup d'importance dans la suite, il existe, entre les substances caractéristiques du noyau et du protoplasme, un autre facteur règlant la valeur du rapport nucléoplasmatique, c'est l'eau d'imbibition. Pour toutes ces raisons, on ne peut, affirme judicieusement BELAR savoir si, comme le voudrait Hertwig, tout changement du rapport nucléoplasmatique correspond à une modification des substances actives du noyau et du protoplasme.
SCHAEFFER et Le BRETON (19) echappèrent à toutes ces difficultés lorsqu'ils eurent l'idée, certainement fructueuse, de transporter la notion du rapport nucléoplasmatique du domaine morphologique dans le domaine bio-chimique. Ils en font un rapport de la masse des substances nucléoplasmatiques, déterminées par l'azote aminopurique à la masse des protides totaux. Mais si on peut espérer obtenir ainsi un rapport plus exact des masses en jeu dans la cellule, SCHAEFFER et Le BRETON, le font expressément remarquer, les deux notions de rapport nucléoplasmatique ainsi définies ne se superposent pas, elles se complètent et s'éclairent mutuellement.

On conçoit parfaitement qu'une même masse de substance nucléinique peut donner naissance à des noyaux plus ou moins volumineux si le suc nucléaire est plus ou moins abondant. On conçoit également que le rapport des masses des substances carac-

téristiques n'expriment le rapport nucléoplasmatique que si la teneur en eau est différente dans les éléments nucléaires et dans le protoplasme On conçoit enfin que les filaments de chromatine peuvent contenir d'autres corps que des nucléines, corps susceptibles d'influer sur le volume du noyau soit directement par leur présence, soit indirectement, en modifiant le degré d'imbibition des filaments. Des considérations analogues nous amèneraient à montrer qu'il n'y a pas davantage parallélisme nécessaire entre le volume total de la cellule et la quantité des protides qu'elle renferme. Mais c'est précisément parce qu'il n'y a pas parallélisme nécessaire, c'est précisément parce que des rapports de volume différents peuvent correspondre à un même rapport de masse des substances caractéristiques, qu'il y a intérêt de déterminer le rapport des masses.

La comparaison des deux rapports nous permettra, en effet, de savoir si les faits physiologiques observés sont sous la dépendance des quantités de matières actives ou sous celle de leur mode de répartition dans la cellule et de la surface qu'elles offrent.

On peut même aller plus loin dans la distinction entre le rapport nucléoplasmatique des cytologistes et celui des substances puriques aux protides totaux, et regretter l'emploi d'une même appellation dans les deux cas.

Cette identité de qualification suppose en effet que le corps choisi pour calculer la masse de la substance nucléinique n'existe dans la cellule que sous la forme d'acide nucléinique, localisé dans le noyau.

Or nous savons maintenant qu'au moins en ce qui concerne les tissus des animaux supérieurs il est loin d'en être ainsi.

Peu après que EMBDEN et ZIMMERMANN (5) eurent mis en évidence l'existence d'un nucléotide adénylique dans le muscle de lapin, PARNAS (15—16) établissait, fait extrêmement important pour tout le métabolisme des purines et sa signification, que dans le muscle l'azote aminopurique de l'acide nucléinique ne compte que pour 4 % de l'azote aminopurique total, le reste étant sous

la forme de nucléotides. PARNAS en conclut que le rapport chimiquement déterminé dans les tissus n'est pas un rapport nucléoplasmatique mais simplement le rapport de l'azote aminopurique à l'azote total. (Io) Une telle constatation enlève-t-elle tout intérêt à la détermination de ce rapport? Nous ne le croyons pas. Elle est simplement la base de notre récente affirmation, à savoir qu'il ne convient pas de confondre sous un même nom deux choses qui peuvent être essentiellement différentes.

Que la détermination de l'azote aminopurique, sans souci initial, tout au moins, de la nature des combinaisons dans lesquelles il se trouve dans la cellule, puisse présenter encore un vif intérêt, c'est ce qui se dégage, croyons nous, de nos études avec RITTER (20). Nous avons montré en effet que, à travers toute la série des homéothermes, du rat au boeuf, un même tissu présente un même taux d'azote aminopurique: 0, gr 075 par 100 gr. de tissu frais pour le muscle, 0, gr 145 pour le foie. Comme nous savons que la teneur en protides est également la même, l'identité du rapport s'en suit nécessairement pour chaque tissu. Par conséquent quelle que soit la part respective de l'acide nucléinique, des nucléotides et peut-être des nucléosides dans l'azote aminopurique globalement déterminé, il n'en reste pas moins qu'il existe une relation fixe, caractéristique du tissu entre cet azote aminopurique et les protides totaux.

I) Il va de soi qu'il y aurait eu le plus grand intérêt à saisir les substances nucléiniques par un corps et peut-être aussi par un procédé de dosage moins sujet à caution que l'azote aminopurique. Nous avions naturellement pensé, à la suite des travaux de JAVILLIER (II—12) et ses collaborateurs à utiliser le dosage du P. nucléinique tel qu'il était décrit par cet auteur. Mais les essais, très nombreux tentés au laboratoire dans un tout autre but dès 1925 et sur des tissus variés d'homéothermes adultes nous avaient donné des résultats peu satisfaisants et beaucoup moins cohérents que ceux obtenus par le dosage de l'azote aminopurique. Lorsqu'est paru récemment l'étude critique de JAVILLIER (10) étude dont la connaissance acquise plus tôt nous eût sans doute amené à utiliser son procédé grâce aux perfectionnements qu'il lui apporte, notre travail expérimental était à peu près achevé.

C'est cette relation que le bio-chimiste, détermine, rien de plus. On ne pourrait l'homologuer au rapport nucléoplasmatique que s'il était démontré que tous les composés aminopuriques ont leur siège dans le noyau et non partiellement dans le protoplasme.

Mais si la connaissance du rapport nucléoplasmatique réel peut être importante pour la compréhension des opérations cellulaires, celle du rapport de l'ensemble des corps puriques aux protides totaux peut ne l'être pas moins. Un seul exemple nous le fera comprendre. On sait combien les biologistes se préoccupent de trouver une base précise permettant d'expliquer les différences considérables qui séparent les êtres vivants quant à l'intensité de leurs combustions. Si on laisse de côté tout ce qui a trait aux mécanismes particuliers des homéothermes, pour ne s'attacher qu'à la respiration élémentaire, on devrait être évidemment tenté d'aller chercher les causes de ces différences dans des différences de composition ou de structure, or c'est précisément soit à la quantité des composés nucléiniques soit à leur mode de répartition dans la cellule qu'on a fait appel.

Rappelons, en effet,:

— Sur le premier point la doctrine formulée depuis longtemps déjà par PALLADINE (14) et d'après laquelle l'intensité respiratoire des végétaux serait proportionnelle à leur teneur en azote non digestive, c'est-à-dire aux substances nucléiniques.

— Sur le second point l'importance que LOEB, OESTERHAUT, LILLIE, accordent au noyau dans les oxydations, importance remarquablement mise en évidence par WARBURG (23) qui attribue une intensité respiratoire beaucoup plus intense aux globules rouges d'oiseaux, nucléés qu'à ceux des mammifères, non nucléés. (I)

Or dans une telle question, il conviendrait précisément de distinguer ce qui est le fait de la structure nucléaire de ce qui est la conséquence d'une abondance plus ou moins grande de subs-

I) ROCHE et Mme SIEGLER-SORU (1—8) ont tout récemment insisté, à nouveau sur ces faits.

tances nucléiniques quel qu'en soit le mode de répartition dans la cellule. A quantités égales de corps puriques la respiration est-elle beaucoup plus intense lorsque ces corps sont constitués en noyaux que lorsqu'ils sont répartis uniformément dans le protoplasme? C'est là sans doute un des nombreux problèmes que pourra résoudre une comparaison entre le rapport nucléoplasmatique, mesuré par les cytologistes, et le rapport de l'azote aminopurique à l'azote protidique déterminé par les bio-chimistes.

Et c'est pour permettre une telle comparaison, pour être en mesure d'entamer ultérieurement l'étude de questions analogues à celles dont nous venons de poser les termes que, reprenant les recherches déjà commencées par Mr. TERROINE et RITTER (20) nous nous sommes décidés à une investigation systématique de la valeur du rapport de l'azote aminopurique à l'azote protidique dans les cellules et les tissus.

Dans une première étape, nous avons volontairement laissé de côté la constitution des tissus différenciés d'animaux supérieurs pour nous adresser tout d'abord aux êtres les plus simples, à des organismes unicellulaires chez lesquels le rapport cherché ne risque pas d'être masqué par les conséquences d'une différenciation ultérieure des tissus. Aussi bien est-ce sur leur étude qu'a été fondée la notion du rapport nucléoplasmatique.

Dans ces conditions il va de soi que les organismes auxquels il eût fallu s'adresser tout d'abord étaient les protozoaires, objets des travaux de R. HERTWIG et de la plupart de ceux qui l'ont suivi dans ses recherches sur le rapport nucléoplasmatique, les causes et les conséquences des variations de valeur de ce rapport.

Malheureusement, de multiples raisons s'opposent, à l'heure actuelle à une telle entreprise. Tout d'abord si le dosage de l'azote total peut maintenant se faire sur des quantités de substance extrêmement minimes, il n'en est pas encore de même pour la

détermination des composés puriques, laquelle exige un matériel assez abondant.

D'autre part les protozoaires autres que les **Flagelles** autotrophes ne se développent qu'aux dépens soit d'autres organismes, soit de substances azotées complexes. Si l'on peut éliminer la première difficulté — séparer l'organisme étudié de celui qui; lui sert d'aliment — on se heurte fatalement à la seconde: on n'a point à faire à une synthèse complète des divers constituants cellulaires aux dépens de substances simples, mais plutôt à un remaniement de matériaux organiques déjà préparés et assemblés.

Or, un des buts les plus importants d'une étude portant sur les microorganismes est de chercher si, dans la synthèse de la matière vivante qu'ils réalisent aux dépens d'un nombre extrêmement restreint de substances à structure très simple, il y a un lien nécessaire entre les quantités formées de corps puriques et de protides.

Ce lien existe-t-il? Si oui, s'il y a une dépendance quantitative, entre les phénomènes de synthèse, qui aboutissent aux protides et ceux qui donnent naissance aux composés puriques, le rapport des unes aux autres devra être le même chez tous les organismes cellulaires opérant ces synthèses. Mais on peut également concevoir que, tout comme il est caractéristique d'un tissu chez les homéothermes, le rapport des composés puriques aux protides est caractéristique d'un organisme. Et s'il en est ainsi, on pourra distinguer les divers microorganismes par la valeur de ce rapport lequel constituera une constante biochimique. Le désir de répondre à ces questions est à l'origine du présent travail. En dehors de l'intérêt que la réponse comporte en soi, on conçoit en effet que si, parallèlement aux études des cytologistes sur le rapport nucléoplasmatique, on veut dans la suite comme nous le tenterons, rechercher l'influence des facteurs variés sur la masse des constituants cellulaires, il faut avoir une base certaine de comparaison.

Pour toutes les raisons indiquées, nous avons donc été amenés à délaisser momentanément les protozoaires et à nous adresser à d'autres types d'ailleurs variés de microorganismes: moisissures diverses, levures et bactéries. Sans doute nous réunissons ainsi des organismes de structure très différente puisque le noyau est nettement distinct du protoplasme chez les-uns, tandis qu'on ne sait si, chez les autres la substance nucléaire est diffuse ou même fait totalement défaut. Mais, cherchant une relation chimique, c'est volontairement que nous l'avons fait. Il n'en sera d'ailleurs que plus intéressant de comparer les résultats acquis par les deux séries et de rechercher ultérieurement l'influence que peuvent exercer les conditions de nutrition et de température sur les uns et sur les autres.

Au total:

Déterminer chez de multiples microorganismes, dont les-uns (moisissures, levure) possèdent un noyau nettement distinct du protoplasme, et les autres (bactéries) une substance chromophylle diffuse le rapport de l'azote aminopurique, caractéristique de l'ensemble des substances nucléiniques (ac. nucléinique , nucléotide, nucléosides), aux protides totaux en vue de rechercher s'il existe un lien quantitatif nécessaire entre la synthèse des composés puriques et des protides ou si la valeur du rapport constitue une constante biochimique de l'espèce considérée.

II) TECHNIQUE.

I) **Choix et conditions d'obtention des microorganismes.**

Une fois formulé notre désir d'étudier simultanément des cellules nuclées et des êtres à substance nucléaire diffusé, le choix des microorganismes a été guidé par deux considérations: d'une part, la possibilité d'obtenir dans chaque catégorie, des récoltes abondantes dans un temps aussi bref que possible; d'autre part, avoir à faire à des microorganismes dont l'alimentation, sans être identique — ce qui est impossible pour des bactéries et des moisissures—soit aussi voisine que possible.

Le choix des moisissures était simple, toutes poussant rapidement et donnant des récoltes très abondantes. Nous nous sommes décidés pour les plus connues des physiologistes. **Sterigmatocystis Nigra, aspergillus orhizae penicillum glaucum.** La culture est faite en boîtes de Roux sur milieu salin de Czapeck contenant 3 % de saccharose, 0, 5 % de sulfate d'ammoniaque et amenée à Ph 5 par l'acide sulfurique.

Comme bacilles, nous avons pris des organismes assez éloignés; **bacille tuberculeux, bacille de la fléole, bacille lactique, mycoderma aceti.** Les trois premiers ont été cultivés dans les conditions habituelles de leur développement sur milieu riche en glucide et contenant de l'azote sous la forme d'asparagine. Pour le dernier nous nous sommes contentés de procéder à l'analyse d'une mère de vinaigre; nous ne donnons donc les chiffres obtenus qu'à titre d'indication.

Les levures viennent toutes de l'industrie. Il s'agit, soit de levures récoltées en plein travail de fermentation dans les brasseries (I) soit de levures vendues pour la boulangerie.

I) Nous remercions vivement Mr. P. Roehrig de la brasserie LORENZEN d'avoir bien voulu, à de multiples reprises nous fournir les quantités nécessaires pour notre travail.

Dans tous les cas, par conséquent, les organismes étudiés se sont donc développés aux dépens d'une alimentation extrêmement voisine dont les glucides constituent l'élément essentiel. Ils ont incontestablement réalisé aux dépens de ces glucides et de formes d'azote très simples la synthèse complète de leurs constituants azotés.

Les microorganismes ont toujours été recueillis dans des conditions telles qu'ils n'aient point eu à souffrir d'inanition. On s'est toujours assuré, en effet, que le milieu de culture était encore abondamment pourvu de matériaux nutritifs de toute nature au moment de la récolte.

Aussitôt après la récolte, les amas cellulaires sont soigneusement lavés à l'eau distillée tiède puis épongés avec du papier filtre, amenés en une masse homogène par découpage fin lorsque celà est nécessaire, dans le cas des moisissures.

Une petite portion sert à déterminer le poids sec, trois autres portions sont respectivement utilisées pour les dosages de N total, N protidiques, N aminopurique.

II) **Méthodes de dosage.**

Si la pratique qui consiste à se renseigner sur la teneur en protides d'un tissu d'animal supérieur par le seul dosage de N total, est défendable, les autres formes d'azote existant en quantités très médiocres, nous nous sommes aperçus très rapidement qu'il n'en était plus du tout de même avec les microorganismes. On a d'ailleurs mis en évidence chez plusieurs d'entre eux, la levure en particulier, la présence de quantités abondantes de composés azotés non protidiques tels que l'asparagine. La détermination devait donc être strictement limitée à celle de l'azote protidique. Nous avons employé dans ce but la méthode de VOIT.

Quant au dosage de l'azote aminopurique, nous l'avons pratiqué par la méthode de la double précipitation cuivrique, respectant dans leur ensemble les indications données par SCHAEFFER et Le BRETON (19).

Toutes ces techniques comportent, comme terme final, une évaluation de l'azote total. Nous avons eu recours alors au microkjehldahl avec distillation dans l'appareil Parnas-Wagner.

Il nous faut donc justifier l'application aux microorganismes des procédés de dosage de l'azote protidique et de l'azote aminopurique.

A — dosage de N protidique par la méthode de Voit.

Etablie sur des albumines animales, cette méthode consiste essentiellement en une détermination de l'azote total puis de l'azote des corps enlevés par extraction alcoolique à froid en présence d'une solution concentrée de sulfate de soude. La différence entre les deux valeurs est attribuée à l'azote des protides.

Tout récemment BONNET (2) a montré l'exactitude de ce procédé dans l'étude des corps azotés d'origine végétale. Nous avons donc opéré sur les microorganismes exactement comme il opère sur les tissus végétaux. Pour contrôler la validité de la méthode dans le cas qui nous occupe, des dosages ont été effectués successivement sur de l'édestine pure, de la levure de bière, et un mélange de levure et d'édestine.

I) **Edestine pure.**

	N total	N extrait	N protidique
Edestine employée (gr.)	0,225	0,643	—
N trouvé en gr.	0,03924	0,001	—
N %	17,44	0,15	17,29

II) **Levure de bière fraîche pressée:**

	N total	N extrait	N protidique
Levure employée en gr.	0,6305	2,4736	—
N trouvé en gr.	0.01688	0,01367	—
N %	2,677	0,552	1,925

III) **Mélange édestine 0,7175 + levure 1,7475**

N total) quantité employée: 0,742 (0,216 édestine + 0,526 levure)
) N trouvé: 0,05153

N extrait) quantité employée 1,723 (0,5015 édestine+1,2215 levure)
) N trouvé: 0,0071

Dans le cas de la prise utilisée pour doser l'azote extrait, l'azote total présent calculé d'après le premier dosage était de:

$$\frac{0,05133 \times 1,753}{0,742} = 0,11965$$

Donc l'azote protidique présent dans le mélange extrait est de:

$$0,11965 - 0,0071 = 0,11255$$

Or d'après les dosages faits précédemment sur les substances séparées il devait y avoir dans le mélange extrait:

provenant de la levure	$\frac{1,2215 \times 1,925}{100}$	= 0,02351
provenant de l'édestine	$\frac{0,5015 \times 17,29}{100}$	= 0,08670
	au total	0,11021

La différence entre les valeurs trouvées est ainsi de:

$$0,11255 - 0,11021 \times 100 = 2,1\ \%$$

Cette méthode donne donc dans le cas, des microorganismes d'excellents résultats.

B — **Dosage de l'azote aminopurique:**

La méthode a été successivement appliquée: à l'acide nucléinique de levure pure, à de la levure et d'acide nucléinique.

I **Acide nucléinique:** L'acide nucléinique de levure a été mis gracieusement à notre disposition par les établissements Byla; nous adressons à la direction de cette maison nos plus vifs remerciements.

Si l'on accepte la structure «tétranucléotide» avec deux bases puriques, la teneur en azote est de 14,79 % ainsi que l'a indiqué LEVENE (13) Le poids moléculaire serait de 1265 renfermant 112 N purique.

Les résultats analytiques ci-dessous montrent une concordance parfaite avec les valeurs calculées.

	N total	N purique
quantité ac. nucléinique employée	0,441	0,680
quantité N calculée	14,79 %	0.060
quantité N trouvée	14,75 %	0.061

II) **Levure:** Les essais portent sur de la levure pressée pour boulangerie

Poids sec (gr)	N purique trouvé (gr)	N purique en % poids sec
5,3317	0,0472	0,885
7,3609	0,0672	0,912

L'écart, entre les deux valeurs trouvées n'est que de 3 %. Au surplus on trouvera dans tout le cours de ce travail de multiples exemples de déterminations faites en doubles sur un même échantillon, et aboutissant à un même résultat.

III)**Mélange de levure et d'acide nucléinique:** La levure employée est la même que celle précédemment analysée. Nous lui accorderons la valeur moyenne de 0,898 % d'azote aminopurique.

Le mélange utilisé contient 4,851 de levure (en poids sec) soit par conséquent 0,0435 d'azote purique et 0,562 d'ac. nucléinique, soit par conséquent 0,0497 d'azote purique. Il apporte donc au total 0,0931 d'azote purique.

L'analyse directe du mélange en décèle 0,0921 soit une différence en moins de I %. La méthode est donc parfaitement applicable aux microorganismes.

III) **Résultats expérimentaux:**

Les résultats des analyses sont réunis dans les tableaux I (moisissudes) II (bacilles divers) et III (levures).
On remarquera tout d'abord, nouvelle justification des méthodes, l'identité des valeurs obtenues lors d'analyses faites en double. Pour l'azote protidique, deux dosages donnent respectivement 3,86

TABLEAU I. **La repartition de l'azote chez diverses moisissures.**

Forme de N dosée	Poids de l'échantillon frais (en gr)	Teneur en substances sèches (en %)	Poids sec de l'échantillon calculé (en gr)	Quantité N trouvée dans l'échantillon (en gr)	N en % du poids sec
Sterigmatocystis Nigra (culture de 3 jours; 38°)					
N total	1.4940	24.19	0.3614	0.0205	5.67
N extrait	1.6685	24.19	0.4036	0.0051	1.26
N protidique					4.41
N purique	26.4220	24.19	6.3914	0.0264	0.41
Sterigmatocystis Nigra (culture de 3 jours; 38°)					
N total	1.404	18.55	0.2604	0.0207	7.94
N extrait	2.5605	18.55	0.4378	0.0071	1.62
N protidique					6.32
N purique	30.2525	18.55	5.6118	0.0392	0.69
Sterigmatocystis Nigra (culture de 3 jours; 38°)					
N total	1.1715	27.22	0.3188	0.0171	5.35
N extrait	1.4760	27.22	0.4017	0.0049	1.22
N protidique					4.13
N purique	23.9435	27.22	6.6174	0,0281	0.42
Aspergillus orhizae (culture de 2 jours; 38°)					
N total (Ech. 1)	1.7995	31.31	0.5634	0.0263	4.67
N extrait	1.3735	31.31	0.4300	0.0035	0.81
N protidique					3.86
N total (Ech. 2)	1.3320	31.31	0.4180	0.0199	4.76
N extrait	1.4675	31.31	0.4594	0.0038	0.82
N protidique					3.94
N purique	24.598	31.31	7.701	0.0238	0.31
Penicillium Glaucum (culture de 6 jours; 38°)					
N total	1.0095	21.67	0.2187	0.0155	7.13
N extrait	2.9070	21.67	0.6299	0.0118	1.92
N protidique					5.21
N purique	11.980	21.67	2.596	0.0118	0.45

TABLEAU II. **La répartition de l'azote chez divers bacilles.**

Forme de N dosée	Poids de l'échantillon frais (en gr)	Teneur en substances sèches (en %)	Poids sec de l'échantillon (calculé) (en gr)	Quantité N trouvée dans l'échantillion (en gr)	N en % du poids sec
			Mycoderma aceti		
N total	1.4150	7.64	0.1081	0.0009	0.83
N extrait	1.7705	7.64	0.1352	0.0003	0.22
N protidique					0.61
N purique	10.5110	7.64	0.8030	0.0007	0.08
			Bacille lactique		
N total	0.5080	16.89	0.0858	0.0110	12.82
N extrait	0.3465	16.89	0.0586	0.0017	2.90
N protidique					9.92
N purique	2.571	16.89	0.4342	0.005	1.15
			Bacille de la fléole		
N total	0.527	40.34	0.2125	0.0171	8.04
N extrait	0.7435	40.34	0.2997	0.007	2.33
N protidique					5.71
N purique	4.8835	40.34	1.970	0.0085	0.43
			Bacille tuberculeux		
N total	1.074	19.85	0.2134	0.0116	5.43
N extrait	1.034	19.85	0.2052	0.0020	0.97
N protidique					4.46
N purique	9.822	19.85	1.959	0.0063	0.32
N total	1.652	18.43	0.3044	0.0171	5.61
N extrait	1.947	18.43	0.3589	0.0026	0.72
N protidique					4.89
N purique	13.863	18.43	2.5549	0.0083	0.32

TABLEAU III. **La répartition de l'azote dans la levure de bière.**

Forme de N dosée	Poids de l'échantillon frais (en gr)	Teneur en substances sèches (en %)	Poids sec de l'échantillon (calculé) (en gr)	Quantité de N trouvée dans l'échantillon (en gr)	N en % du poids sec
			Levure „Fala"		
N total	2.3177	28.28	0.6554	0.0518	7.90
N extrait	3.0068	28.28	0.8503	0.0103	1.21
N protidique					6.69
N purique	21.3835	28.28	6.0472	0.0467	0.77
			Levure de la Brasserie „Lorenzen"		
N total	2.6185	20.24	0.5299	0.0504	9.51
N extrait	2.1735	20.24	0.4389	0.0064	1.45
N protidique					8.06
N purique	23.174	19.50	4.5189	0.0422	0.93
			Levure de la Brasserie „Patria"		
N total	1.9837	23.97	0.4754	0.0465	9.98
N extrait	3.3506	23.97	0.8045	0 0129	1.60
N protidique					8.38
N purique	21.3784	23.97	5.1244	0.0490	0.95
			Levure pressée du commerce pour Boulangerie		
N total	1.3842	28.95	0.4007	0.0302	7.53
N extrait	1.8150	28.95	0.5254	0.0082	1.56
N protidique					5.97
N purique	18.8935	28.95	5.4690	0.0365	0.66

TABLEAU IV. **La répartition de l'azote chez les moisissures, les bactéries et les levures.**

Nature de l'organisme	Teneur en N protidique en % du poids sec	Teneur en N purique en % du poids sec	Rapport $\frac{\text{N purique}}{\text{N protidique}} \times 100$
Sterigmatocystis Nigra Culture N° 1	4.41	0.41	9.2
„ „ „ N° 2	6.32	0.59	10.9
„ „ „ N° 3	4.13	0.42	10.1
Aspergillus orhizae Echantillon N° 1	3.86	—	
„ „ „ N° 2	3.94	0.31	7.8
Penicillium Glaucum	5.21	0.45	8.6
Mycederma aceti	0.61	0.08	13.1
Bacille lactique	9.92	1.15	11.5
Bacille de la fléole	5.71	0.43	7.5
Bacille tuberculeux Culture N° 1	4.46	0.32	7.1
„ „ „ N° 2	4.89	0.32	6.5
Levure „Fala“	6.69	0.77	11.5
Levure „Lorenzen“	8.06	0.93	11.5
Levure „Patria“	8.38	0.95	11.3
Levure du commerce pour boulangerie	5.97	0.66	11.0

et 3,94 chez **l'aspergillus orhyzae** (tableau I) 4,46 et 4,89 chez le **bacille tuberculeux** (tableau II); pour l'azote purique les deux dosages sur **bacille tuberculeux** donnent 0,32 (tableau II). En dehors des questions dont la discussion fait l'objet du présent travail l'attention doit être attirée sur la présence d'une quantité très importante d'azote non protidique chez tous les organismes utilisés. Dans la suite nous nous proposons de préciser les diverses combinaisons dans lesquelles l'azote extrait par l'alcool est engagé.

Dès maintenant il convient de tenir compte de ce fait dans le calcul de la composition globale des microorganismes. Il est inadmissible d'opérer comme l'ont fait de nombreux chercheurs et tout récemment encore PETERSON et FRED (9): multiplier par 6,25 le taux de l'azote total. A cet égard il est intéressant de comparer les analyses de HOPKINS, PETERSON et FRED et les nôtres toutes deux sur le bacille lactique. Si l'on recalcule sur la base du poids sec les valeurs données par HOPKINS et ses collaborateurs pour **Lactobacillus leichmanni** on trouve 80 % de protides. C'est à ce même chiffre que nous aboutissons en faisant porter comme eux, notre appréciation uniquement sur l'azote total: 12,82 x 6,25 = 80 Mais si, comme il envient, l'azote extrait est défalqué de l'azote total alors le taux des protides s'abaisse à 9,92 x 6,25 = 62 %. Une analyse exacte des corps bactériens et plus généralement des microorganismes, doit donc comporter une détermination précise de l'azote protidique.

IV) — **Discussion des résultats.**

Pour discuter aisément les questions posées et dégager les conséquences diverses des faits acquis, les résultats essentiels ont été réunis dans le tableau IV.

A) **Valeur du rapport au cours du développement.** Nous savons fort bien que, pour chaque organisme considéré, nous mesurons une moyenne. Lors de la récolte, les cellules se présentent à des moments différents de leur développement: les-unes,

très jeunes; d'autres arrivées à leur dimension maxima, d'autres enfin en cours de division. Mais cette moyenne n'est pas sans intérêt et peut, cependant, être caractéristique.

En effet, pour un même microorganisme, la teneur en protides varie beaucoup et cette variation nous paraît être l'indice d'un développement plus ou moins avancé, les éléments de soutien (cellulose) étant d'autant plus abondants que les organismes sont plus âgés. Or le rapport de l'azote aminopurique à l'azote protidique ne varie pas sensiblement. Le phénomène, visible avec le **st. — Nigra,** est particulièrement frappant chez la levure: suivant la provenance des échantillons examinés, le taux de l'azote protidique varie de 5,97 à 8,38 alors que le rapport est à peu près identique dans tous les cas.

On est ainsi amené à penser que, pour un microorganisme donné, lorsque restent assurées toutes les conditions d'une excellente nutrition, un équilibre bien défini est constamment maintenu, entre substances nucléiniques et protides.

B) **La valeur du rapport chez les divers microorganismes.**

Si l'on passe maintenant à la comparaison des divers microorganismes, étudié entre eux, deux faits sont à retenir.

I) Le rapport varie très sensiblement d'une espèce à l'autre. Par conséquent sa valeur n'est pas sous la dépendance des phénomènes chimiques de synthèse, elle est caractéristique de l'organisme considéré. Toutefois les écarts observés ne sont pas très étendus.

Si l'on élimine le cas du **Mycoderma aceti** dont les résultats sont douteux, la valeur la plus faible mesurée sur le **bacille tuberculeux** et le **bacille de la Fléole** oscille autour de 7; la valeur la plus élevée, celle de la **levure,** est de 11. On comprend tout l'intérêt de l'extension de cette étude, dans l'avenir, à d'autres catégories de microrganismes.

2) La présence ou l'absence d'un noyau n'influe en rien sur la quantité relative des substances nucléiniques. Les valeurs relevées chez les divers bacilles étudiés ne sont pas très différentes

de celles notées chez les moisissures et les levures. En particulier, il est curieux de constater une valeur identique du rapport des corps puriques aux protides chez le bacille lactique, organisme à substance chromophile diffuse, et la levure cellule nuclée. Une telle observation pourra être de grande utilité en vue de la différenciation du rôle chimique des substances nucléiniques et du rôle physique de la structure nucléaire dans le mécanisme des oxydations.

C) **Comparaison des microorganismes et de certaines cellules de tissus d'animaux supérieurs: conséquences physiologiques possibles des différences.**

L'étude antérieure poursuivie par Mr. TERROINE et RITTER (20) sur les homéothermes montre l'existence d'un taux moyen d'azote aminopurique de 0 gr. 075 pour le muscle et de 0 gr. 145 pour le foie par 100 gr. de substance fraîche.

Si l'on accepte une teneur en protides de 20 %, c'est-à-dire 3,2 N on aboutit à un rapport (multiplié par 100 comme nous l'avons fait pour les microorganismes) de 2,3 dans le cas du muscle et de 4,5 dans celui du foie. Ces valeurs d'ailleurs identiques à celles obtenues par TRUSZKOWSKI (22) son très faibles comparées à celles des microorganismes.

Or, depuis longtemps des biologistes ont été frappés par la grandeur de l'intensité respiratoire des organismes unicellulaires par rapport à la faiblesse de la respiration **in vitro** des tissus d'animaux supérieurs. CALLOW (4) qui a consacré une longue étude à la respiration des bactéries insiste sur cette différence: «It must be remarked that the Oxygen uptake of aerobic bacteria is large when compared with that of mammalian tissue. The bacteria examined took up 5—25 cm^3 oxygen per hour per g. of dry weight Meyerhof found that I g. of intact frog muscle at 22° took up 30 — 48 mm^3 in one hour. Assuming that the frog muscle contained 70—75 % water, the oxygen uptake per g. of dry weight would be at most 152 mm^3 as against 5— 25 cm^3 for the same weight of bacteria in the same time. After cutting up the frog muscle very finely, Meyerhof found that the oxygen uptake was increased to

400—500 mm^3 which would give at most 2,16 cm^3 per hour per g. of dry weight, which is less than half the amount of oxygen taken up by the last efficient basterium».

Les travaux publiés par Mr. TERROINE et ROCHE (21) sur la respiration in vitro du muscle des homéothermes à 20° montrent une consommation de 400 mm^3 d'oxygène par gramme heure de tissu frais, valeur identique à celle trouvée par MEYERHOF sur le muscle de grenouille. Si l'on tient compte, en outre, du fait que les bactéries contiennent, sous forme de cellulose, et parfois aussi sous forme de cires, une masse inerte assez importante alors que le tissu musculaire peut-être considéré comme constitué à peu près entièrement par des éléments actifs, la différence réelle qui sépare l'activité respiratoire de ce tissu de celle des bactéries est encore plus grande que ne la font apparaître les comparaisons de CALLOW.

Est-ce précisément à l'abondance des substances nucléiniques chez les microorganismes, à la valeur considérablement élevée du rapport des corps puriques aux protides totaux que présente ces êtres, qu'est dûe l'intensité plus grande de leurs processus d'oxydation? C'est là un problème que nous ne pouvons résoudre dès maintenant mais que pose nécessairement la comparaison des résultats apportés ici sur la composition des microorganismes avec ceux antérieurement acquis sur la grandeur de leurs échanges respiratoires.

CONCLUSIONS.

I) Chez les divers microorganismes étudiés—moisissures, levures, bacilles— la teneur en azote total ne peut être prise comme base pour le calcul du taux des protides. Une quantité importante de matières azotées existe en effet sous une forme non albuminoïde. Il convient donc de procéder à une détermination précise de l'azote protidique.

2) Chez un même microorganisme, les cultures en cours de développement sur un milieu assurant une alimentation complète, présentent toujours une même valeur du rapport des corps puriques aux protides malgré des variations importantes du taux des protides.

3) Les divers microorganismes étudiés présentent des valeurs différentes du rapport de l'azote aminopurique à l'azote protidique; la valeur du rapport est caractéristique de l'espèce considérée. Toutefois les écarts ne sont pas très importants, les valeurs extrêmes étant de 7 pour le bacille tuberculeux et 11 pour la levure.

4) Il n'y a aucun parallélisme entre les différences de valeur du rapport et la présence ou l'absence d'un noyau: le bacille lactique, à substance chromophile diffuse présente une même valeur que la levure, cellule nuclée.

5) La valeur du rapport est beaucoup plus élevée chez tous les microorganismes étudiés que chez certains tissus d'animaux supérieurs muscle et foie. Sans vouloir établir dès maintenant un rapport de cause à effet, il y a lieu de rapprocher cette constatation du fait que l'intensité respiratoire in vitro de ces tissus est beaucoup plus faible que celle des bactéries.

CHAPITRE II.

Influence de la température sur les taux des protides et des corps puriques chez les microorganismes.

I) Objet du travail

Les observations cytologiques s'accordent pour attribuer à la température extérieure une action marquée sur le rapport nucléoplasmatique. R. HERTWIG a, le premier, appelé l'attention sur ce point; la température extérieure agirait à la fois sur le volume de la cellule entière et sur les dimensions relatives du noyau et du protoplasme. Les poïkilothermes ont de grandes cellules, c'est le cas des truites vivant dans les ruisseaux de haute montagne, du **Proteus anguineus** qui vit à 7°. Par ailleurs, cultivé sur alimentation abondante, **Paramecium candatum** présente un rapport noyau/protoplasma de 1: 13 à 25° et de 1: 8 à 8° (3) chez **Trantania leucas** le rapport nucléoplasmatique est de 1/54 à 14° et de 1/64 à 25°. Sur des larves d'oursins se développant à 20°, 16—17°, les grandeurs cellulaires varient entre elles comme I, I,5 et 2,5 et celles du noyau comme 1 —2,75 et 3,30 (2) Ainsi pour HERTWIG; le noyau serait toujours relativement beaucoup plus gros à température basse.

Ces faits ont été confirmés en ce qui regarde **Trantania leucas** par les mesures de POPOFF (5) qui assignent à cet organisme un rapport nucléoplasmatique de 67 à 25° et de 54—57 à 14°.

C'est-à une conclusion identique qu'aboutit également G. SMITH (7) dans son étude sur la formation des kystes unicellulaires **d'Actinosoherium Eichorni:** proportionnellement au protoplasme, la quantité de chromatine est diminuée par la chaleur et accrue par le froid.

Toutefois il se pourrait que la règle exprimant l'influence de la température sur le rapport nucléoplasmatique fut moins simple qu'une variation continue.

Etudiant en effet **Paramecium candatum** à 10°, 15°, et 25°, RAUTMANN (6) constate l'existence d'un point critique à 20°. «Das Steigen und Sinken der Kernplasmarelation verläuft bei Paramecium candatum nicht genau parallel zu dem Steigen oder Sinken der Temperatur». Les variations sont d'ailleurs assez étendues car si on les évalue, comme le fait RAUTMANN par le rapport protoplasme/noyau on trouve 10,4—14, 6 à 20°; 13, 1—17, 2 à 15°; 13, 2—22, 6 à 20° et 16,7—19,8 à 25°

Ce point critique MAIGE (4) le retrouve dans les cellules des embryons de Haricot; c'est entre ces limites de température que la croissance du noyau et du nucléole se poursuit le plus rapidement.

En tout cas quelle que soit l'allure de la courbe qui traduit les variations du rapport nucléoplasmatique en fonction de la température extérieure, il n'est pas douteux que la température exerce une influence considérable, sur la valeur de ce rapport, laquelle est très nettement plus élevée à température basse.

Ces variations traduisent-elles des modifications correspondantes dans la masse relative des substances caractéristiques du noyau et du protoplasme? Bien qu'aucune étude systématique n'est jamais été faite dans ce sens, on serait tenté de le penser en se fondant sur les travaux de TRUSZKOWSKI et de DMOCHOWSKI. Ces auteurs déterminent le rapport de l'azote aminopurique à l'azote total chez des organismes entiers, homéothermes et poïkilothermes. Ce rapport est de 20.62 x 10 chez le rat 21.56 à 21.63 chez le cobaye (8,9) 37,80 chez la grenouille (10) 31.70

à 44.91 chez la truite (I). Or, comme le fait remarquer Dmochowski, rapprochant ses observations de celles faites par les cytologistes sur la valeur du rapport nucléoplasmatique, les valeurs obtenues sont plus élevées chez les poïkilothermes que chez les homéothermes.

On ne saurait cependant conclure d'une manière définitive à un accord complet entre mesures de dimensions et déterminations chimiques. Tout d'abord le rapport du poids des organes au poids du corps peut être très différent chez les différents organismes étudiés; les tissus étant inégalement riches en substances nucléiniques, les différences observées peuvent simplement tenir à l'existence de proportions variables des divers tissus. La comparaison entre poïkilothermes et homéothermes, pour être probante, devrait porter non sur des organismes totaux, mais sur des tissus homologues.

D'autre part, rien ne dit qu'il ne s'agit pas là de différence spécifique n'étant en rien sous l'influence de la température extérieure.

Pour affirmer ou nier l'existence d'une action de la température sur le rapport, chimiquement déterminé, du noyau au protoplasme, c'est-à-dire des substances nucléiniques évoluées par un de leurs constituants caractéristiques aux protides il faut, comme l'ont fait les cytologistes, utiliser un seul et même organisme susceptible de se développer à des températures variées. Et c'est ce que nous avons voulu entreprendre.

Il l'eût évidemment fallu faire sur les organismes mêmes étudiés par Hertwig et ses successeurs, les protozoaires. Les raisons techniques, préalablement exposées, ne le permettent pas, tout au moins pour le moment.

Nous nous sommes donc adressés à d'autres organismes **unicellulaires,** nucléés, faciles à obtenir rapidement en quantités abondantes et capables de se développer à des températures éloignées; la **levure de bière** et deux moisissures, le **Sterigmatocystis nigra** et **l'aspergillus orhyzae.**

Au total:

Etudier sur des microorganismes nucléés l'influence de la température sur le rapport des substances nucléiniques caractérisées par leur azote aminopurique aux protides totaux:

II) Technique.

Les techniques suivies pour la détermination des valeurs cherchées sont celles précédemment décrites.

Pour la levure nos premières recherches avaient porté sur des organismes servant à la fabrication de la bière par fermentation basse et par conséquent développés à 5º--6º. La comparaison a été faite à l'aide de levure de fermentation haute, dont la croissance s'est effectuée dans les moûts entre 20º et 25º.

Pour les moisissures, nous avons comparé aux cultures préalablement obtenues à 38º d'autres développées sur un milieu identique à 21º

III) **Résultats expérimentaux.**

Les résultats des analyses sont réunis dans le tableau I. Notre but est de les comparer à ceux précédemment acquis sur ces mêmes organismes développés à d'autres températures. Mais il faut, pour celà, que les récoltes aient été faites dans des conditions analogues. Or, la croissance est beaucoup plus lente à basse température; l'obtention des quantités nécessaires pour l'analyse demande un temps plus long. N'y a-t-il pas là un élément d'erreur, les cellules développées les premières ne s'altèrent-elles pas dans la suite?

Nous croyons la comparaison légitime parce que le taux des protides est de même grandeur aux différentes températures. Les levures de fermentation basse nous ont montré une teneur en N protidique variant de 5.97 à 8.38; celle de fermentation haute nous présente maintenant un taux de 6.37. Mêmes faits pour les moisissures. La teneur en N protidique varie de 4.13 à 6.32 à 38º et

TABLEAU I. **Influence de la température sur la répartition de l'azote chez divers microorganismes.**

Forme de N dosée	Poids de l'échantillon frais (en gr)	Teneur en substances sèches (en %)	Poids sec de l'échantillon (calculé) (en gr)	Quantité de N trouvée dans l'échantillon (en gr)	N en % du poids sec
Levure de fermentation haute (20-25°)					
N total	1.4420	26.09	0.3762	0.030	7.97
N extrait	1.9065	26.09	0.4974	0.008	1.60
N protidique					6.37
N purique	23.9020	26.09	6.2360	0.0499	0.80
Sterigmatocystis Nigra (culture de 5 jours: 21°)					
N total	1.5510	21.11	0.3273	0.021	6.23
N extrait	1.4520	21.11	0.3065	0.0053	1.72
N protidique					4.51
N purique	36.7795	21.11	7.7644	0.0412	0.53
N total	1.448	20.51	0.2969	0.0194	6.53
N extrait	1.988	20.51	0.4077	0.0072	1.78
N protidique					4.75
N purique	32.096	20.51	6.5818	0.0346	0.52
Aspergillus orhizale (culture de 11 jours: 21°)					
N total	1.0405	26.47	0.2754	0.0141	5.11
N extrait	1.0515	26.47	0.2783	0.0028	1.00
N protidique					4.11
N purique	18.0465	26.47	4.7769	0.0127	0.26
N total	1.4170	26.47	0.3750	0.0187	4.99
N extrait	1.6780	26.47	0.4441	0.0079	1.77
N protidique					3.22
N purique	15.7130	26.47	4.1592	0.0124	0.27

de 4.51 à 4.75 à 21°. Chez **Sterigmatocystis nigra;** de 3.86 à 3.94 à 38° et 3.22 à 4.11 à 21° chez **Aspergillus orhyzae.**
Il est donc naturel de penser, les protides étant dans tous les cas dans une même proportion vis-à-vis des éléments inertes, que les organismes sont comparables.

IV) **Discussion des résultats.**

Nous avons réuni ci-dessous pour les trois microorganismes étudiés, les valeurs précédemment acquises et celles maintenant déterminées à d'autres températures.

		Rapport $\frac{\text{Naminopurique} \times 100}{\text{N protidique}}$
Levure de bière	fermentation basse (5°-6°) (moy.) . . .	11.4
	„ haute (20°-25°)	12.5
Sterigmatocystis nig.	21°	11.71 ~ 0.9
	38° (moy.)	10.0
Aspergillus orhyzae	21°	6.3 ~ 8.6
	38°	7.8

De la comparaison qui peut se faire ainsi, il ressort très nettement qu'en aucun cas, des différences considérables de température n'ont provoqué de modification sensible de la composition quantitative des microorganismes, en ce qui regarde les substances azotées. Le rapport de l'azote aminopurique à l'azote protidique total est le même lorsque le développement s'opère à des températures qui s'écartent entre elles de 17°.

Y a-t-il là une opposition définitive entre les mesures des cytologistes et nos déterminations? Nous nous garderions bien de l'affirmer puisqu'il ne s'agit pas des mêmes organismes.

Mais il est parfaitement possible d'imaginer que la température agit différemment sur le taux de l'eau d'imbibition des substances du noyau et de celles du protoplasme. Dans ces conditions les

volumes relatifs du noyau et du protoplasma pourraient varier sans aucune modification correspondante de la relation des corps puriques aux protides totaux.

S'il en était ainsi on saisirait l'une des causes d'un discord possible entre le rapport nucléoplasmatique et le rapport chimique des constituants caractéristiques du noyau à ceux du protoplasma. Ces considérations imposent incidemment une reprise complète, sur un même organisme, de l'étude comparée de l'influence de la température extérieure d'une part, sur les dimensions relatives du noyau et du protoplasma, d'autre part sur les rapports de masse des substances nucléaires aux protides. La question qui nous préoccupe actuellement est de savoir sur quels organismes une telle recherche pourra être aisément poursuivie.

CONCLUSIONS.

Développés à des températures présentant entre elles un écart de 17°, les divers microorganismes étudiés—**levure de bière, Sterigmatocystis nigra, Aspergillus orhyzae,** — ne montrent aucune différence significative quant à la valeur du rapport de leur azote aminopurique à leur azote protidique total en fonction de la température.

CHAPITRE III.

Influence de l'inanition (inanition complète et inanition azotée) sur le taux des protides et des corps puriques chez les microorganismes.

I) Objet du travail.

Les conséquences de l'inanition sur la quantité et la répartition des matières azotées de la cellule ont été, l'objet de multiples travaux. Le plus souvent, ces travaux ont été guidés par l'idée de rechercher s'il existe ou non deux catégories essentiellement différentes de substances albuminoïdes; les unes, constituants essentiels et permanents de la cellule, (noyau et protoplasma); les autres jouant le rôle de matières de réserve, accumulées lors de circonstances nutritives favorables, consommées au cours de l'inanition.

De telles études ont été poursuivies par les morphologistes et les biochimistes et, nécessairement, très différemment conduites par les uns et les autres. Il convient donc, avant tout, de comparer les résultats acquis dans les deux camps.

I) Etudes morphologiques.

L'étude de l'influence des conditions nutritives, plus particulièrement de l'inanition, sur la constitution de la cellule a essentiellement porté sur les variations relatives de diminution du noyau

et du protoplasme. Poursuivie le plus souvent sur des organismes unicellulaires, elle l'a parfois été aussi sur des cellules appartenant à des tissus différenciés d'animaux supérieurs.

I) **Cas des cellules de tissus d'animaux supérieurs**

La comparaison du tissu musculaire de taureaux normaux, inanitiés et suralimentés permet à MOULTON (15) d'observer une variation considérable de la dimension des fibres, lesquelles s'amoindrissent pendant le jeûne. Mais cette constatation, qui nous montre la diminution globale du contenu cellulaire, ne nous permet pas de savoir s'il y a eu faute simultanée et proportionnelle de tous les éléments de ce contenu ou départ de quelques uns d'entre eux seulement.

De ses études sur la Salamandre et le Rat, études ayant porté sur les cellules de la peau, du duodénum, du foie et du pancréas, MORGULIS (14) conclut qu'il y a toujours, de par le jeûne, diminution à la fois du noyau et du protoplasme chez la Salamandre, le premier disparait moins vite que le second puis la taille du noyau restant constante, le protoplasme continue à diminuer.

Cette disparition plus rapide du protoplasme peut s'observer aussi chez le Rat, mais elle ne doit être considérée comme une règle générale.

2) **Cas des microorganismes.**

Dans un des travaux fondamentaux au cours desquels il établit l'intérêt de la notion du rapport nucléoplasmatique, R. HERTWIG (10) envisage le cas de l'inanition. Il constate, ainsi que son élève Kasanzeff, une diminution du protoplasma et du noyau chez les Paramécies inanitiées, mais primitive et plus abondante pour le protoplasme.

Egalement sur les Paramécies, WALLENGREN (26) relève pendant la première phase de l'inanition des modifications très sensibles d'aspect et de quantité de l'endoplasme et de l'ectoplasme tandis que le noyau ne change pas de volume mais simple-

ment de forme. La seconde phase est caractérisée par une rupture du noyau dont les morceaux servent alors probablement d'aliments. Il y aurait donc attaque progressive des éléments constitutifs de la cellule et celà dans leur ordre d'importance pour la vie de la cellule.

Les observations de STOLTE (18) sur les Stentors l'amènent à penser qu'il y a deux structures caractéristiques des états de nutrition: une structure d'hiver ou de jeûne; une structure d'été ou d'abondance alimentaire; structures que l'on peut toutes deux, d'ailleurs, réaliser expérimentalement. La première présente un gros noyau avec peu de segments noyés dans une masse abondante de protoplasme; la seconde un petit noyau très segmenté avec peu de protoplasme.

Dans l'ensemble et bien qu'on ne puisse constater une concordance parfaite, il se dégage des études cytologiques l'impression très nette que, sous l'influence des conditions nutritives, les variations du protoplasme et du noyau ne sont pas proportionnelles. Si tous deux sont modifiés le premier est plus fortement renforcé que le second dans l'alimentation abondante, plus rapidement et plus activement consommé lors de l'inanition.

Il en résulte tout d'abord que s'il existe, chez l'organisme considéré, des éléments de soutien inertes, le taux des protides, rapporté au poids total de l'organisme devra diminuer au cours de l'inanition. En outre, si des variations relatives de masses correspondent aux variations relatives de dimensions observées par les morphologistes, le biochimiste devra trouver, au cours de cette même inanition, une augmentation du rapport des substances nucléiniques aux protides et une variation de sens inverse dans l'alimentation abondante. En est-il réellement ainsi ?

II) **Etudes biochimiques.**

Les études biochimiques ayant pour but de préciser la nature des constituants azotés qui, abandonnant la cellule au cours de l'inanition ou qui y pénètrent au cours de la suralimentation,

ainsi que l'ordre dans lequel ils le font, appartiennent à trois types bien distincts, quels que soient les cellules ou groupements cellulaires plus ou moins complexes sur lesquels elles portent (I) :

— variation du taux de l'azote total, considéré comme représentant de la masse globale des protides, ou mieux du taux des protides exactement déterminé;

— variation de composition des protides;

— variations du rapport des substances nucléiniques aux protides totaux.

A) **Variations du taux de N total ou des protides totaux**

I) **Cas des organismes totaux.** L'analyse comparée d'organismes homéothermes entiers (souris, veuve à collier d'or) normaux, suralimentés en protides, soumis à l'inanition complète ou à l'inanition protéique prolongée jusqu'à la mort montre à TERROINE, BRENCKMANN et FEUERBACH (20) que la teneur en N total est à peu près identique dans tous les cas. Elle est un peu plus élevée lors de la mort par inanition, variation toute relative due à la disparition des réserves grasses. TERROINE, BRENCKMANN et FEUERBACH en concluent que tous les éléments constitutifs disparaissent simultanément au cours du jeûne et qu'il n'y a pas lieu de parler de réserves azotées. Toutefois, à la suite d'une observation de KAHN (12), TERROINE, TRAUTMANN, et SCHNEIDER (21) reconnaissent que s'il existe une réserve azotée, l'analyse globale d'un organisme ne permettrait pas de la déceler si elle est d'une médiocre importance quantitative.

D'autre part, chez les homéothermes tout au moins, la dépense azotée au cours du jeûne est très minime par rapport à la

---

I) Nous avons volontairement laissé de côté la constatation d'un des faits classiques qui sont à l'origine de la recherche d'une réserve azotée chez les animaux supérieurs: la non instantanéité de mise en équilibre azoté lors d'un changement de taux des protides alimentaires.

disparition des matières grasses; les quantités de protides disparues peuvent ne pas retentir sensiblement sur le taux global.

Il pourrait en être autrement chez les Poïkilothermes, auxquels les physiologistes polonais qui les ont beaucoup étudiés accordent un métabolisme d'inanition tout différent. Pour la satisfaction de leurs besoins énergétiques pendant le jeûne, ces êtres feraient appel aux protides dans une proportion beaucoup plus élevée que ne le font les homéothermes. D'après les valeurs apportées par BIALACZEWSKI (I) **sur les Hirudinées,** LIBRACH **(13) sur les amphibiens** la proportion relative des graisses et des protides dégradés serait à peu près l'inverse de ce qu'elle est chez les Homéothermes. Dans ce cas, s'il y a réserves albuminoïdes, tout comme il y a réserves grasses abondantes chez les homéothermes, ne faisant pas partie intégrante, constitutives des tissus actifs, on peut s'attendre à un abaissement du taux global des protides tout comme on observe une diminution du taux global des corps gras chez les homéothermes.

Or, d'après BIALASCZEWSKI (I) la constitution chimique du corps de **l'Hirudo medicinalis** ne change presque pas pendant le cours de l'inanition. Cet auteur considère d'ailleurs le métabolisme de l'inanition des Poïkilothermes comme étant caractérisé par une désintégration des tissus. Sans doute LIBRACH (13) trouve-t-elle que le taux des protides est plus faible chez la grenouille inanitiée que chez les sujets normaux. Mais il s'agit là d'une diminution globale des tissus actifs par rapport au squelette, comme permet de le penser l'augmentation correspondante du taux des cendres.

Enfin VIEWEGER (25) ne trouve aucune différence sensible entre des anguilles normales qui renferment de 14,8 à 16,0 % de protides, et deux sujets ayant subi un jeûne de 319 et 320 jours et qui en contiennent respectivement 14,9 et 14,0 %.

Passant à des organismes inférieurs, GROBICKA et WASILEWSKA (9) constatant que des infusoires normalement nourris

renferment 1,20 % de protides, par rapport à la substance fraîche, et ceux abandonnés pendant 4 jours à l'inanition 0,98 % différence médiocre.

Par contre TERROINE, WURMSER et MONTANE (22) voient le taux de N total tomber de 6,4—5,4 % du poids sec, chez le **Sterigmatocystis nigra** normal, à 2,82—2,7 dans ses cultures longuement inanitiées. Mais comme cet organisme possède un squelette cellulosique considérable, il est bien vraisemblable qu'on mesure ici la diminution de la matière vivante toute entière, non celle d'une albumine labile jouant le rôle de réserve.

Si donc elles ne peuvent être invoquées à elles seules pour résoudre la question de l'existence d'albumine de réserve, les recherches sur le taux global des protides dans l'organisme entier ne peuvent certainement pas l'être en faveur de cette existence.

2)**Cas des tissus.**

Les variations du taux de N total, ou des protides totaux, dans les tissus ont été recherchées soit dans l'inanition, soit dans la suralimentation protéique.

a)**Cas de l'inanition et de la suralimentation.**

Les physiologistes ont longtemps admis que le taux des protides des tissus rapporté à la matière fraîche dégraissée, ne subissait pas de variation sensible au cours de l'inanition. (I) Les données récemment acquises sont assez contradictoires.

Pour MOULTON (15) la sous-alimentation ne provoque pas, chez le boeuf, l'apparition d'une musculature aqueuse. Par contre, HOREGLAND et SOWICK (11) constate que les muscles de boeuf gras, très maigre, extrêmement émacié renferment respectivement 22,09; 19,80 et 18,94 % de protides le taux correspondant de l'eau étant de 76,27; 79,38 et 80,45.

D'autre part GREEN (8) constate qu'au moment du frai, après le long jeûne qui précède, les protides du muscle du saumon, lesquels atteignent normalement 20 % de la substance fraîche, tombent à 14 %, l'eau ayant inversement varié dans la même proportion.

b) **Cas de la suralimentation protéique.**

Si l'on n'a jamais, à notre connaissance, signalé l'existence de variations importantes du taux des protides du muscle après suralimentation, par contre, et depuis longtemps on discute sur le rôle du foie comme organe de réserve azotée. Or les observations anciennes de SEITZ (16) sur la poule et le canard, celles récentes de GAUTIER et THIERS (7) aboutissent à des conclusions identiques: la suralimentation azotée diminue légèrement le taux des protides du foie (2), elle provoque une augmentation considérable du volume de l'organe. Conclusion extrêmement suggestive puisqu'elle tend à montrer, non l'emmagasinement indépendant d'une albumine de réserve, mais l'augmentation simultanée de tous les constituants cellulaires.

B) **Constitution chimique comparée des protides des tissus normaux et inanitiés.**

S'il y a, dans toute cellule, dans tout tissu, deux matières albuminoïdes n'ayant point un même rôle physiologique, l'une de réserve et passagère, l'autre constitutive et permanente, si en outre, ces deux substances ont une composition nettement différente; l'analyse rendra la destruction manifeste par la différence de constitution des protides totaux d'un tissu normal et du même tissu inanitié.

L'existence d'une telle différence est considérable d'ailleurs — CAHN et BONOT (2) l'affirment pour le foie sur la base de la teneur en azote des protides totaux extraits de cet organe —, cette teneur étant beaucoup plus élevée après l'inanition que chez les

---

1) On trouvera les indications bibliographiques principales sur cette question ainsi que les données apportées par l'un de nous dans un travail antérieur (20).

2) Des études poursuivies au laboratoire, mais momentanément interrompues tendent à nous faire croire que cette conclusion ne s'applique peut-être pas aux sujets jeunes en voie de croissance. Nous aurons à revenir plus tard sur ce point.

sujets normaux. Ils en concluent à l'existence d'une quantité importante d'albumines de réserve dans le foie. Une telle conception, formulée en 1927, parait avoir été fondée sur des erreurs de techniques les mêmes auteurs l'ayant complètement reniées — en 1928. Les faits constatés écrivent-ils alors, concernant la teneur en azote des protides du foie normal et du foie des jeûneurs ne sont pas susceptibles de montrer si des albumines de réserve existent dans cet organe. (3, P. 523)

CAHN et BONOT (4) essayent alors de distinguer entre albumines de réserve et albumines constitutives par une analyse plus intime des protides des tissus. S'adressant à deux acides aminés dont la présence dans la molécule albuminoïde est particulièrement significative l'arginine et la cystine ils recherchent le taux de ces acides aminés et leur rapport entre eux dans les protides extraits de tissus normaux et inanitiés. S'il existe réellement deux types d'albumines, si chimiquement ces deux types sont nettement tranchés, le rapport entre les deux acides aminés devra changer au cours de l'inanition. Or la conclusion des auteurs est formelle. «Nos chiffres montrent l'identité du rapport arginine/cystine dans les muscles de tous les mammifères normaux et inanitiés, constatation en faveur de l'identité des protides consommés et non consommés au cours du jeûne par l'animal qui vit de sa propre substance. La raison en doit être cherchée dans le fait que les organismes, tels que ceux étudiés par nous, ne peuvent stocker d'azote que sous forme **de protides organisés, et que ces derniers ne peuvent l'être que sous la forme d'éléments de type morphologique et chimique différenciés»** (I) (4, p. 813)

C) **Variations du rapport des substances nucléiniques aux protides totaux.**

Il convient ici de distinguer les cas du muscle, du foie, des organismes totaux

I) **Cas du muscle.**

C'est en se fondant sur les modifications observées au cours du jeûne, du rapport de l'azote aminopurique combiné à l'azote protidique que KAHN (12) affirme avec force la présence, dans le muscle de lapin, d'une quantité considérable d'albumines de réserves.» On voit donc dit-il; qu'au cours du jeûne la proportion d'acide nucléinique par rapport aux protides a passé de 684 à 961, **soit une augmentation de 40 %.**

Sur ce, la pensée de KAHN paraît avoir fortement évolué. Reprenant la question avec BONOT, mais évaluant les composés nucléiniques non plus par leur azote aminopurique mais par leur phosphore il déclare que, au cours du jeûne, «on ne voit jamais d'augmentation de la teneur en phosphore nucléinique, par rapport aux protides dans le cas des muscles du lapin, on ne la voit que dans quelques cas chez le chien». (4, p. 795). Cette seconde affirmation ruine entièrement la première. Elle est d'ailleurs en plein accord avec les conclusions de TRUSZKOWSKI (24) et de DMOCHOWSKI (5). DMOCHOWSKI signale la constance parfaite du rapport de l'azote aminopurique à l'azote protidique dans le muscle de lapin pendant tout le cours de l'inanition. Pour le même rapport, TRUSZKOWSKI relève dans le muscle du rat blanc des valeurs extrêmes de 20,03—23,28 lorsque les sujets sont soumis à l'alimentation hydrocarbonée unique, 21, 83—28,06 s'ils reçoivent de la viande pendant le même temps, 20, 63—24,30 s'ils sont complètement inanitiés.

2) Cas du foie.

S'appuyant sur les variations des valeurs du rapport du phosphore nucléinique à l'azote total, CAHN et BONOT

I) Ce sont les auteurs qui soulignent. Il n'est pas sans intérêt de rapprocher cette phrase de celle qu'écrivaient TERROINE, BRENCKMANN et FEUERBACH en 1924: «On peut donc dire que le fonctionnement matériel d'un organisme, qu'il s'use ou qu'il se répare, qu'il s'appauvrisse ou qu'il s'enrichisse en tissus actifs a pour conséquence le maintien d'un équilibre quantitatif constant entre les divers constituants (20, p. 252.)

(2) affirment l'existence de masses importantes d'albumines de réserve chez tous les homéothermes étudiés par eux, chien, lapin, cobaye. «Nous devons signaler comme particulièrement intéressant le cas du cobaye, chez lequel la teneur en azote des protides ne varie que peu au cours du jeûne et où cependant l'existence d'albumines paraplasmatiques se trouve confirmée par l'augmentation de la concentration en acide nucléinique, aussi grande que chez les autres espèces.» Conclusion singulièrement édulcorée un an après puisqu'ils montrent que le rapport étudié présente une augmentation, nette chez le chien (de 22,6 à 33) plus faible chez le lapin (27 à 33,5) et qu'ils déclarent que «Tout se passe donc comme si les échanges proportionnellement plus élevés qui se font chez les animaux de petite taille ne permettaient pas l'accumulation de protides dans le foie (3, p. 523)

Au surplus, TRUSZKOWSKI (23) ne relève aucune différence du rapport de l'azote aminopurique à l'azote total dans le foie de rats suralimentés à la viande, soumis à l'inanition protéique ou à l'inanition complète.

S'il existe vraiment des protides de réserve ils sont donc réalisés dans le foie et encore chez certaines espèces seulement. Ainsi se trouve entièrement confirmée la conception exprimée par TERROINE, TRAUTMANN et SCHNEIDER (21) à savoir que ces protides ne représentent qu'une quantité infime par rapport à la masse totale de l'organisme. Et c'est sans doute pourquoi les mesures faites sur homéothermes totaux ne vont montrer aucune variation du rapport des substances nucléiniques aux protides sous l'influence de conditions nutritives variées.

3) Cas des organismes totaux.

Opérant sur des rats TRUSZKOWSKI (5) voit la valeur moyenne du rapport de l'azote aminopurique à l'azote total passer de 20,62 chez les sujets normaux à 17,77 chez les inanitiés. Ainsi, non seulement ce rapport n'a point augmenté comme il l'aurait dû s'il y avait eu destruction abondante d'albumine de réserve, mais il a diminué.

Faisant porter ses études sur des Poïkilothermes, DMOCHOWSKI (5) note une valeur de 35,89 chez la grenouille normale et 36,77 chez un animal ayant subi un jeûne de 73 jours. Chez la truite, les valeurs extrêmes normales vont de 34,70 à 44,9 et chez les sujets inanitiés de 44,31 à 52,49.

Ainsi:

— dans la question de savoir tout d'abord s'il existe deux groupes distincts de matières albuminoïdes: les unes, faisant partie intégrante, nécessaire de la cellule, liées par un rapport quantitatif fixe avec les autres éléments comme doit l'être tout constituant cellulaire; les autres, jouant le rôle de réserves, variables, s'accumulant pendant l'alimentation, disparaissant pendant le jeûne. Voir ensuite si, écartant la notion d'une albumine de réserve, les divers éléments fondamentaux de la cellule, noyau et protoplasme, s'usent ou se rénovent simultanément et dans la proportion même qu'ils occupent dans la cellule, ou s'il y a un ordre dans leur disparition au cours du jeûne, comme leur croissance dans le cas d'une alimentation abondante.

Les analyses des biochimistes, malgré quelques divergences, permettent une réponse qui ne concorde nullement avec les observations et les mesures des morphologistes.

Sans doute il n'y a unité complète ni dans un camp, ni dans l'autre. Mais, comme nous l'avons déjà indiqué, il se dégage des observations des morphologistes l'impression que, par rapport au noyau, la destruction du protoplasme est plus précoce et plus rapide au cours de l'inanition. Par contre, qu'il s'agisse de l'organisme total ou de tissus différenciés (foie et muscle) les mesures des biochimistes montrent, pour la plupart, une disparition progressive, simultanée et dans un rapport constant des matières caractéristiques du noyau et des protides totaux.

Comment expliquer une telle divergence? De multiples raisons peuvent être invoquées. Avant d'en discuter la valeur, il nous a paru qu'il convenait tout d'abord d'étendre l'investigation chimique à des organismes de même groupe que ceux observés

par les morphologistes. Jusqu'ici, en effet, l'effort des biochimistes a porté à peu près uniquement sur les organismes supérieurs et leurs tissus. Il convient maintenant, si l'on veut tenter une comparaison, utile, de passer à l'étude des microorganismes. Et c'est dans le désir de pouvoir, grâce à cette comparaison, soulever une discussion fructueuse qu'il faut voir le point de départ du présent travail. Mais étant donné les quantités de matières éxigées pour les analyses, une telle étude est, à l'heure actuelle, sinon impossible, tout au moins extrêmement difficile. En attendant la mise au point de techniques de culture qui nous permettrons peut-être de l'entreprendre, nous nous sommes, dans un premier temps adressés à d'autres microorganismes, faciles à obtenir en quantités abondantes et à soumettre à l'inanition totale ou azotée; le **Sterigmatocystis nigra** et la **levure de bière.**

Au total **Déterminer chez des microorganismes—Sterigmatocystis nigra et levure de bière — la variation simultanée du taux de l'azote des protides et de l'azote aminopurique au cours de l'inanition protéique et de l'inanition complète afin de rechercher s'il existe dans ces organismes des protides de réserve distints des albumines constitutives et s'il y a un ordre de disparition des composés azotés au cours du jeûne:**

II) TECHNIQUE.

A) Cas du Sterigmatocystis nigra

L'inanition complète a été réalisée de la manière la plus simple. Le microorganisme est cultivé comme à l'habitude, mais au lieu de le récolter lorsque le milieu contient encore toutes les substances nutritives nécessaires au développement on le laisse épuiser ce milieu. Au bout de quelques jours, le liquide de culture, s'il renferme encore un peu d'azote à l'état de sel, ne contient plus de sucre. C'est donc l'inanition complète qui durera jusqu'au moment de la récolte. Pour réaliser l'inanition azotée simple, après développement abondant de la moisissure sur milieu habituel on enlève soigneusement, en sî-

phonnant ce qui reste de ce milieu et on le remplace par un liquide identique en ce qui regarde les teneurs en substances minérales et en sucre mais ne renfermant pas de sulfate d'ammoniaque.

B) Cas de la levure:

Les cellules sont émulsionnées tantôt dans une solution saline, (inanition complète) tantôt dans une solution saline sucrée (inanition azotée) et l'on fait passer dans l'émulsion un violent courant d'air. Après la durée d'inanition nécessaire, le liquide est centrifugé et le culot de centrifugation soigneusement lavé à plusieurs reprises.

Les dosages d'azote protidique et d'azote aminopurique sont faits comme il a été précédemment décrit.

III) **Résultats expérimentaux.**

Les résultats expérimentaux sont réunis dans les tableaux I, II, III, et IV.

Pour chaque durée d'inanition étudiée, chaque tableau comporte plusieurs mesures. Il peut, en effet y avoir quelque différence de développement dans l'organisme au moment où il est soumis à l'inanition ou quelque différence dans l'abondance des réserves de toute nature qu'il peut contenir. En fait, tant en ce qui concerne le **Sterigmatocystis nigra** que la **levure,** les résultats sont extrêmement homogènes et cela aussi bien pour la teneur en protides totaux que pour le taux de l'azote aminopurique. Nous avons donc le droit de les présenter en un tableau d'ensemble dans lequel se trouve dessinée l'évolution des composés azotés au cours de l'inanition.

IV) **Discussion des résultats.**

Le tableau V qui réunit les résultats des mesures faites après des durées variées de jeûne permet tout d'abord de constater qu'il y a toujours diminution des protides totaux. C'est là un fait qui corrobore entièrement les observations déjà anciennes de TERROINE, WURMSER et MONTANE (22) relatives à la chute considérable du taux de l'azote total au cours de l'inanition.

TABLEAU I. Influence de la prolongation de la durée de culture (inanition complète) sur la répartition de l'azote chez le Sterigmotocystis Nigra

Forme de N dosée	Poids de l'échantillon frais (en gr)	Teneur en substances sèches (en %)	Poids sec de l'échantillon (calculé) (en gr)	Quantité de N trouvé dans l'échantillon (en gr)	N en % du poids sec
		5 jours : 38°			
N total	1.1535	29.95	0.3454	0.0193	5.67
N extrait	3.0555	29.95	0.9151	0.0023	0.25
N protidique					5.42
N purique	41.0985	29.95	12.309	0.0602	0.58
N total	2.0083	29.40	0.5909	0.0333	5.63
N extrait	2.9857	29.40	0.8777	0.0039	0.44
N protidique					5.19
N purique	41.050	29.40	12.0687	0.0625	0.51
N total	1.4040	32.98	0.4630	0.0313	6.55
N extrait	4.0575	32.98	1.3381	0.0039	0.29
N protidique					5.26
N purique	41.5555	32.98	13.9050	0.078	0.56
		8 jours : 38°			
N total	1.977	17.22	0.3404	0.0129	3.78
N extrait	3.5465	17.22	0.6007	0.0034	0.56
N protidique					3.22
N purique	46.819	17.22	8.0822	0.0238	0.29
N total	1.607	28.8	0.4800	0.0180	3.75
N extrait	3.371	28.8	0.9608	0.004	0.41
N protidique					3.34
N purique	24.8403	28.8	7.1540	0.0226	0.31
		12 jours : 38°			
N total	1.8235	26.74	0.4876	0.0150	3.07
N extrait	4.489	26.74	1.2003	0.0046	0.37
N protidique					2.70
N purique	27.2752	26.74	7.3137	0.0085	0.11
N total	1.832	18.11	0.3317	0.0104	3.13
N extrait	4.3845	18.11	0.7980	0.0033	0.41
N protidique					2.72
N purique	42.042	18.11	7.6138	0.0045	0.059
		18 jours : 38°			
N total	1.4780	25.76	0.3807	0.0087	2.28
N extrait	2.5650	25.76	0.6607	0.0017	0.25
N protidique					2.03
N purique	40.6435	25.76	10.4707	0.0021	0.02
N total	4.525	21.61	0.9778	0.0226	2.31
N extrait	8.0055	21.61	1.7299	0.002	0.12
N protidique					2.19
N purique	43.149	21.61	9.3244	0.002	0.02

TABLEAU II. **Influence de l'inanition azotée sur la repartition de l'azote chez le Sterigmatocystis Nigra.**

Forme de N dosée	Poids de l'échantillon frais (en gr)	Teneur en substances sèches (en °/₀)	Poids sec de l'échantillon (calculé) (en gr)	Quantité de N trouvée dans l'échantillon (en gr)	N en °/₀ du poids sec
Durée de l'inanition = 2 jours					
N total	1.6355	21.70	0.3549	0.0109	3.07
N extrait	2.5221	21.70	0.5472	0.0035	0.63
N protidique					2.44
N purique	49.3170	21.70	10.7017	0.0166	0.15
N total	1.2585	29.75	0.3743	0.0104	2.77
N extrait	1.7475	29.75	0.5199	0.0019	0.36
N protidique					2.41
N purique	24.7715	29.75	7.3696	0.0081	0.11
Durée de l'inanition = 4 jours					
N total	1.5030	21.78	0.3273	0.0068	2.19
N extrait	2.2310	21.78	0.4859	0.002	0.41
N protidique					1.78
N purique	35.7935	21.78	7.7959	0.007	0.09
N total	1.299	16.93	0.2199	0.0064	2.91
N extrait	1.771	16.93	0.2998	0.0016	0,58
N protidique					2.38
N purique	39.3535	16.93	5.6625	0.0070	0.10
N total	3.3005	22.87	0.7598	0.0194	2.55
N extrait	4.6995	22.87	1.0747	0.0037	0.34
N protidique					2.21
N purique	38.9275	22.87	8.9027	0.007	0.07
Durée de l'inanition = 6 jours					
N total	1.5405	21.85	0.3365	0.0074	2.19
N extrait	2.1150	21.85	0.4621	0.0014	0.30
N protidique					1.89
N purique	16.8125	21.85	3.6735	0.0025	0.06
Durée de l'inanition = 9 jours					
N total	1.5690	23.74	0.3724	0.0089	2.39
N extrait	1.6305	23.74	0.3870	0.0012	0.31
N protidique					2.08
N purique	31.9080	23.74	7.5749	0.0032	0.04

TABLEAU III. **Influence de l'inanition complète sur la répartition de l'azote chez la levure de bière (Levure „Fala“).**

Forme de N dosée	Poids de l'échantillon frais (en gr)	Teneur en substances sèches (en %)	Poids sec de l'échantillon (calculé) (en gr)	Quantité de N trouvée dans l'échantillon (en gr)	N en % du poids sec
Levure normale					
N total	2.6360	28.43	0.7494	0.0569	7.59
N extrait	1.8206	28.43	0.5175	0.0066	6.27
N protidique					6.32
N purique	19.2964	28.43	5.4859	0.0269	0.49
Après 3 jours de suspension, en solution saline, fortement aérée					
N total	2.0526	20.90	0.4289	0.0344	8.02
N extrait	2.084	20.90	0.4355	0.0051	1.17
N protidique					6.85
N purique	24.804	20.90	5.1840	0.0360	0.69
Après 8 jours de suspension, en solution saline, fortement aérée					
N total	1.7620	18.08	0.3185	0.0278	8.72
N extrait	2.944	18.08	0.5322	0.0112	2.10
N protidique					6.62
N purique	25.871	18.08	4.6774	0.0290	0.62

TABLEAU IV. **Influence de l'inanition azotée sur la répartition de l'azote chez la levure de bière.**

Forme de N dosée	Poids de l'échantillon frais (en gr)	Teneur en substances sèches (en %)	Poids sec de l'échantillon (calculé) (en gr)	Quantité de N trouvée dans l'échantillon (en gr)	N en % du poids sec
Echantillons normaux nourris					
N total	1.8725	24.01	0.4495	0.0443	9.85
N extrait	2.4380	24.01	0.5853	0.0109	1.86
N protidique					7.99
N purique	20.1340	24.01	4.8341	0.0403	0.88
Durée de l'inanition = 3 jours					
N total	1.6795	20.26	0.3402	0.0336	9.87
N extrait	2.5370	20.26	0.5139	0.0091	1.77
N protidique					8.10
N purique	22.4810	20.26	4.5546	0.0374	0.82
N total	2.6535	22.70	0.6023	0.0553	9.18
N extrait	1.1210	22.70	0.2544	0.0040	1.57
N protidique					7.61
N purique	19.9580	22.70	4.5304	0.0332	0.73
Durée de l'inanition = 8 jours					
N total	2.3995	23.27	0.5583	0.0501	8.97
N extrait	4.2350	23.27	0.9854	0.0134	1.36
N protidique					7.61
N purique	20.891	23.27	4.8613	0.0363	0.73

TABLEAU V. **Influence de l'inanition sur la repartition de l'azote chez les microorganismes.**

Inanition complète				Inanition azotée			
Durée de l'inanition (jours)	Teneur en N protidique en % du poids sec	Teneur en N purique en % du poids sec	Rapport $\frac{\text{N purique}}{\text{N protidique}} \times 100$	Durée de l'inanition	Teneur en N protidique en % du poids sec	Teneur en N purique en % du poids sec	Rapport $\frac{\text{N purique}}{\text{N protidique}} \times 100$
Sterigmatocystis Nigra				Sterigmatocystis Nigra			
0 (0)	4.95	0.50	10.1	0 (1)	4.95	0.50	10.1
5	5.42	0.58	10.7	2	2.44	0.15	6.1
5	5.19	0.51	9.8	2	2.41	0.11	4.5
5	5.26	0.56	10.6	4	1.78	0.09	5.0
8	3.22	0.29	9.0	4	2.38	0.10	4.2
8	3.34	0.31	9.0	4	2.21	0.07	3.1
12	2.70	0.11	4.0	6	1.89	0.06	3.1
12	2.72	0.059	2.1	9	2.08	0.04	1.9
18	2.03	0.02	0.98				
18	2.19	0.02	0.95				
Levure de bière „Fala“				Levure de bière „Lorenzen“			
0 (2)	6.69	0.77	11.5	0	7.99	0.88	11.0
3	6.85	0.69	10.0	3	8.10	0.82	10.1
8	6.62	0.62	9.3	3	7.61	0.73	9.7
				8	7.61	0.72	9.4

Ensuite et dans tous les cas, qu'il s'agisse du **Sterigmatocystis nigra** ou de la **levure** que l'inanition soit complète ou limitée aux composés azotés il n'y a jamais augmentation de la valeur du rapport des substances nucléiniques —si l'on admet qu'elles sont légitimement représentées par l'azote aminopurique — aux protides totaux. Tout au contraire, dès que la valeur de ce rapport commence à s'écarter de la normale, c'est dans le sens d'une diminution.

Une analyse plus fine permet de dégager trois phases dans les effets de l'inanition.

— la première au cours de laquelle les modifications de composition de l'organisme total sont à peine sensibles: après cinq jours d'inanition, le **Sterigmatocystis nigra** a conservé à peu près son même taux de protides et d'azote aminopurique; après huit jours, le taux des protides de la levure n'a pas varié, celui de l'azote aminopurique n'a que légèrement baissé;

— pendant la seconde période, très bien marquée chez le **St. nigra** à l'inanition complète entre le 5 ième et le 8 ième jour les protides totaux et les composés puriques diminuent considérablement, les seconds dans une proportion très légèrement plus élevée que les premiers, de telle sorte que le rapport ne baisse que fort peu;

— enfin la troisième période est caractérisée par une lente diminution des protides accompagnée par une disparition beaucoup plus rapide de l'azote aminopurique et ceci aussi bien dans l'inanition azotée simple, que dans l'inanition complète, ce qui a pour conséquence un effondrement du rapport.

Comment expliquer les faits ? Tout d'abord, il parait évident que la diminution des protides totaux, par rapport à l'organisme global, ne fait que traduire la diminution des constituants vivants par rapport aux éléments inertes, matériaux de soutien dont la cellulose constitue la partie prépondérante.

L'absence de modifications sensibles dans la première phase traduit l'absence d'inanition réelle. L'organisme continue à vi-

vre normalement pendant un certain temps aux dépens de réserves ternaires d'une part, et d'autre part, d'un certain nombre de composés azotés non protidiques qu'il renferme toujours en quantités assez abondantes.

Dans la seconde phase, il y aurait une diminution simultanée des substances protoplasmatiques et nucléaires, comme tous les cytologistes l'admettent d'ailleurs mais—et celà en opposition complète avec eux — avec une vitesse légèrement plus rapide des substances nueléaires. Si cette constatation biochimique pouvait être étendue à d'autres organismes, il en résulterait une absence de parallèlisme entre les appréciations volumétriques des cytologistes et les mesures de masse chimiquement faites. En conséquence, le sens des modifications relatives de dimensions des éléments cellulaires ne serait pas nécessairement le même que celui de leurs masses. On a vu précédemment que notre étude sur l'influence de la température aboutissait à une conclusion identique. On conçoit donc tout l'intérêt qu'il y aurait à poursuivre, sur d'autres organismes, les études présentées ici sur le **St. nigra** et la **levure.**

Enfin dans la dernière phase il y a eu désagrégation complète de la cellule et comme l'observe WALLENGREN (26) les constituants nucléaires servant alors d'aliments, ils disparaissent plus rapidement que les protides. Il est possible qu'on ait à faire ici à une modification irréversible préface d'une mort totale de l'organisme.

En tout cas, et c'est là pour nous la conclusion capitale; les phénomènes observés chez les deux microorganismes étudiés au cours de l'inanition ne permettant de penser ni à l'existence de réserve de protides dont l'utilisation préalable protègerait l'ensemble du matériel cellulaire; ni à une disparition plus rapide des protides que des composés nucléiniques, bien au contraire.

C'est là une conclusion identique à celle formulée par TRUSZKOWSKI et DMOKOWSKI pour le muscle et le foie de nombreux animaux supérieurs et qui se dégage également des faits observés

par KAHN sur le muscle de lapin et, dans la plupart des cas sur le muscle du chien.

On comprend combien le rapprochement de ces conclusions est important en faveur de la thèse défendue par TERROINE à de multiples reprises et d'après laquelle des réserves azotées sous forme de protides, si elles existent dans l'organisme, ne s'y trouvent qu'en quantités infimes.

CONCLUSIONS.

I) L'inanition complète et l'inanition azotée seule font baisser le taux des protides totaux de la **levure** et du **St. nigra,** diminution considérable chez ce dernier microorganisme lorsque l'inanition est assez prolongée.

2) Au cours de l'inanition il y a disparition simultanée de l'azote aminopurique et de l'azote protidique dans une proportion sensiblement égale, au début, beaucoup plus rapide du premier que du second dans la suite.

Ces faits, en opposition partielle avec les observations des cytologistes relatives aux variations du rapport nucléoplasmatique, ne parlent pas en faveur de protides de réserve d'une nature primitive du protoplasme chez les microorganismes étudiés.

BIBLIOGRAPHIE

(Chapitre I.)

I) BELAR K. — Der Formwechsel der Protitenkerne. **G. Fischer. Iena.** 1920. 206—212

2) BONNET R. L'évolution de l'azote au cours de la germination **Bull. Soc. Chim. biol.** 1929; **II,** 1025—1061

3) BOVERI Th. Ueber die Abhängigkeit der Kerngrösse und Zellenzahl der Seeigellarven, von der Chromosomenzahl der Ausgangszellen **Zellenstudien. H. S. Fischer. Iena** 1905

4) CALLOW A. B. The oxygen uptake of bacteria (**Bioch. J.;** 1924, **18,** 507—518)

5) EMBDEN und ZIMMERMANN. — Das Vorkommen der Adenylsäure in der Skelettmusculatur. **Z. F. physik. Chem.;** 1927, **167,** 167 —

6) GERASSIMOW J. J. — Die Abhängigkeit der Grösse der Zelle von der Menge ihrer Kernmasse, **Z. f: allg. Physiol;** 1902, **I,** 220—258

Ueber die Grösse des Zellkerns. **Beihefte z. Botan. Centralbl.;** 1904, **18,** 45—69

7) HERTWIG R; Ueber das Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma. **Sitzungsber. d. Gesells. f. Morph. u. Physiol.;** 1902—1903, **18,** 77—100

8) HERTWIG R. Ueber Korrelation von Zelle und Kerngrösse und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. **Biol. Centralb.;** 1903, **23,** 4ç—6é et 108—119

9) HOPKINS E. W., PETERSON W. K. and FRED E. B. — The composition of the cells of certain bacteria with special reference to their carbon and their nitrogen content. **J. of Biol. Chem.:** 1929, **85** 21—27

10) JAVILLIER M; Le phosphore nucléique des tissus et sa determination quantitative. **Bull. Soc. Chim. biol.;** 1929, **II,** 644—678

11) JAVILLIER M et ALLAIN H. Sur le dosage du phosphore nucléique dans les tissus des animaux. **Bull. Soc. Chim. biol.** 1925, **7,** 486—498.

12) JAVILLIER M et ALLAIN H et Mme HINGLAIS. — L'analyse des poudres organothérapiques, leur teneur en phosphore total, lipidique et nucléique. **Bull. Soc. Pharmac.** 1925, **82,** 641—659,

13) LEVENE P. A. — Preparation and analysis of animal nucleic acid. **J. of. biol. Chem.;** 1922, **53,** 441—448.

14) PALLADINE W. — Recherches sur la corrélation entre la respiration des plantes et les substances azotées actives. **Revue de Bot.** 1896, **18,** 225—248

15) PARNAS J. K. Le métabolisme du muscle en activité. **C. R. Soc. biol.;** Séance plénière, 17—18 mai 1929, **vol 101** fasc. 23

16) PARNAS J. K. — Ueber die Ammoniakbildung in Muskel und ihren Zusammenhang mit Funktion und Zustandsänderung. VI. Der Zusammenhang der Ammoniakbildung mit der Umwandlung des Adeninnucleotids zu Inosinsäure. **Bioch. Zeits.,** 1929, **206,** 16—36

17) ROBERTSON — The chemical basis of growth and senescence. **Philadelphie** 1923, p 193.

18) ROCHE et Mme SIEGLER—SORU, — La respiration des tissus. IV. Sur la consommation en oxygène du sang des divers animaux homéothermes. **Arch. int. Physiol.** 1929, **31,** 413—427.

19) SCHAEFFER G. et Le BRETON E. — Variations biochimiques du rapport nucléoplasmatique au cours du développement embryonnaire **Masson. Paris.** 1923

20) TERROINE E. F. et RITTER C. — Le métabolisme de base est-il une fonction de la masse active représentée par les substances nucléiniques. **Ann.Physiol. et Physico—Chim. biol.,** 1927. **4,** 575—587.

21) TERROINE E. F. et ROCHE J. — La respiration des tissus. I. Production calorique des homéothermes et intensité de la respiration in vitro des tissus homologues. **Arch. int. Physiol.:** 1925, **24,** 356—399.

22) TRUSZKOWSKI R. — Studies in purine metabolism. III Basal metabolism and purism content. **Bioch. J.:** 1927, **21,** 1040—1053.

23) WARBURG O. — Beiträge zur Biologie der roten Blutzellen **Z. f. Physiol. Chem.:** 1909, **59,** 112—120.

(Chapitre II)

I) DMOCHOWSKI A. — Changes in nuclear—plasmic—ratio of vertebrate poïkilotermes during hunger. **Bioch. J.**; 1928, **22,** 1548—1553

2) HERTWIG R. — Ueber neue Probleme der Zellenlehre. **Arch. f. Zellforsch.**; 1908, **I,** I—32

3) HERTWIG R. — Ueber das Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma. **Sitzmagster. der Gesells. f. morph. u. Physiol.**; 1902—1903— **18,** 77—100.

4) MAIGE. — **C. R. Ac; SC.** 1922—1923—1924 C. R. for biol. 1922—1923

5) POPOFF M. — Experimentelle Studien über die Zellgrösse, ihre Fixierung und Vererbung. **Arch. f. Zellforsch.**: 1909, **3,** 124—180

6) RAUTMANN H. — Der Einfluss der Temperatur auf das Grössenverhältnis des Protoplasmakörpers zum Kern. Experimentale Untersuchung an Paramecium candatum. 1909, **3,** 44—80.

7) SMITH G; — A biometrical study in the mass relation of nucleus and cytoplasme. 1903, **2,** 214, 254.

8) TRUSZKOWSKI R. — Studies in purine metabolism I. Variations in the nuclearplasmic ratio in the adult albino rat II Synthesis of purines by the adult mammalian organism. **Bioch. J.**: 1926, **20,** 437—446.

9) TRUSZKOWSKI R. — Studies in purine metabolism III Basal metabolism and purine content. **Bioch. J.**; 1927, **21,** 1040—1046.

10) TRUSZKOWSKI R. — Studies in purine metabolisl V The nuclear—plasmic ratio of frogs. **Bioch. J.**; 1928 **22,** 198—200.

(Chapitre III)

I) BIALASZEWICZ K. — Etudes comparées sur le métabolisme chimique et énergétique. I. L'inanition et la nutrition chez les Hirudinées. **Tr. Soc. Sciences, Varsovie:** 1919 nº 32

2) CAHN Th. et BONOT A. — Démonstration de l'existence de protides de réserve dans le foie des mammifères. **C. R. Ac Sc.;** 1927, **185,** 1212

3) CAHN Th. et BONOT A. — Recherches sur les variations des équilibres des constituants cellulaires. II Variations au cours du jeûne. **Ann. Physiol. et Physiochim. biol.;** 1928 **4,** 485—530

4) CAHN Th. et BONOT A. — Recherches sur les variations des constituants cellulaires. III Etude de la constitution des protides. IV Techniques. **Ann. Physiol. et Physicochim. biol;** 1928, **4,** 781—845

5) DMOCHOWSKI A. — Changes in nucléear—plasmic ratio af vertebrate poïkilothermes during hunger. **Bioch. J.;** 1929, **22,** 1548—1553

6) DMOCHOWSKI A. — Changes in the nuclear—plasmic ratio of mammals during hunger. **Bioch. J.:** 1928, **22,** 1555—1561

7) GAUTIER Cl. et THIERS P.H. — Augmentation du volume, du poids et de l'azote total du foie sous l'influence d'une alimentation riche en azote. **Bull. Soc. Chim. biol.;** 1928, X, 537—552.

8) GREENE C. W. — Biochemical changes in the muscle tissue of Kingsalmon during the fast of spawning migration. **J. of biol. Chem.:** 1919, **39** 435—477.

9) GROBICKA J. et WASILEWSKA J. — Essai d'analyse chimique quantitative de l'infusoire **Paramecium candatum** St. Inst. Neucki. Lab. Physiol.; 1925, **3,** nº 41.

10) HERTWIG R. — Ueber korreletion von Zell und Kerngrösse und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle **Biol. Zentrabl.** 1903, **23,** 49—62 et 108—119

11) HOAGLAND R. et POWICK W. C. — A chemical study of the flesh of emaciated cattle. **J. of agr. Res.** 1925, **31,** 1001—1013

12) KAHN Th. — Masse protoplasmique active et albumines de réserve. **C. R. Ac. Sc.;** 1925, **180,** 1685

13)LIBRACH St. — Sur le métabolisme chimique chez les amphibiens à l'état de jeûne. **Thèse Fac. Sciences.** Genève, 1926

14) MORGULIS S. — Studies of inanition in its bearing upon the problem of **Arch. F. Entwick. lungsmechanick:** 1911, **11,** 160—268.

15) MOULTON R. — Biochemical changes in the flesh of beef animals during underfeeding **J. of biol. Chem.;** 1920, **43,** 67—78.

16) SEITZ W. — Die Leber als Vorratskammer für Eiweisstoffe **Archiv. f. die Ges. Physiol:** 1906, **Cx** 1,309—334

17) SMITH G. — Actinosphaerium Eichorni. A biochemical study in the mass relations uf muscleus and cytoplasm. **Biometrika,** 1903, **II,** 241—254.

18) STOLTE H. A. — Der Einfluss der Unwelt auf Macronucleus und plasma von **Stentor coeruleus** Ehrbg. **Arch. f. Protisteuk.;** 1922, **48,** 344—389.

19) TERROINE E. F. et BONNET R. — L'énergie de croissance Formation des matières grasses aux dépens des glucides chez les microorganismes. **Bull. Soc.Chim. biol.** 1927 9, 588—596.

20) TERROINE E. F. BRENCKMANN E. et FEUERBACH A. — La composition globale des organismes dans les carences et surcharges diverses: inanition absolue, inanition hydrique, inanition protéique, inanition minérale, avitaminose, surcharge protéique. **Arch. int. Physiol.** 1924, **22,** 233—298.

21) TERROINE E. F. TRAUTMANN S. et SCHNEIDER J. — Grandeur des échanges au cours de l'inanition chez les homéothermes et notion de masse active. **Ann. Physiol. et Physicoch. biol.;** 1926, **2,** 468—487

22) TERROINE E. F. WURMSER R. et MONTANE J. — Influence de la constitution des milieux nutritifs sur la composition de **l'aspergillus nigra. Bull. Soc. Chim. biol.;** 1922, **4,** 623—643.

23) TRUSZKOWSKI R. — Le rapport nucléoplasmatique chez les mammifères adultes. **C. R. Soc. Biol.;** 1926, **94,** 207 Studies in purine metabolism I. Variations in thenuclear plasmic ratio in the adult albino rat. II. Synthésis of purines by the adult mammalian organism. **Bioch. J.** L920, **20,** 437—446.

24) TRUSZKOWSKI R. — Studies in purine metabolism. IV The nuclear—plasmic ratio in dogs in carbohydrate and protein feeding and in starvation. **Bioch. J.;** 1927, **21,** 1047—1053

25) VIEWEGER T. — L'influence de l'inanition sur la composition chimique des anguilles. **Arch. int. Physiol.;** 1928, **XXX,** 133—747

26) WALLENGREN H. — Inanitionserscheinung der Zelle. **Z. f. allg. physiol.;** 1902, **I,** 67—128.

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ

Réfraction des Isomères et des Mélanges

Vu et approuvé
Strasbourg le 19 février 1930
Le Doyen:
E. ROTHE.

Vu et permis d'imprimer
Strasbourg le 20 février 1930
Le Recteur
Président du Conseil de l'Université:
Ch. PFISTER.

Impr. de la Librairie Universitaire d'Alsace — Strasbourg